Ein biologisches Verfahren zur Bestimmung des verfügbaren Lysins in Eiweißfuttermitteln

Roland Weber

1962

Aus dem Institut für Physiologie und Ernährung der Tiere
der Tierärztlichen Fakultät der Universität München
Vorstand: Prof. Dr. Dr. Johannes Brüggemann

EIN BIOLOGISCHES VERFAHREN ZUR BESTIMMUNG DES VERFÜGBAREN LYSINS IN EIWEISSFUTTERMITTELN

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der veterinärmedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

von

Roland Weber

aus

München

München 1961

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: Professor Dr. K. Ullrich

Referent: Professor Dr. Dr. Johs. Brüggemann

Tag der Promotion: 27.2.1962

UNI-Druck, München 13, Amalienstraße 85

INHALTSVERZEICHNIS

		Seite
I.	Einleitung	1
II.	Literaturübersicht	3
	1. Proteinbewertung	3
	2. Bestimmung des Aminosäurenbedarfs	5
	3. Bezugsgrößen für die Aminosäuren-bedarfsangabe	7
	4. Aminosäurenbestimmung in Futtermitteln	12
	5. Die besondere Bedeutung von Lysin in der Eiweißernährung	14
III.	Eigene Untersuchungen, Material und Methodik	18
	1. Versuchsziel	18
	2. Material und Methodik	18
	a) Tiermaterial	18
	b) Unterbringung und Fütterungstechnik	20
	c) Versuchsrationen	20
	d) Auswertung der Versuche	22
IV.	Eigene Untersuchungen, Ergebnisse	28
V.	Besprechung der Ergebnisse	33
VI.	Zusammenfassung	35
VII.	Literaturverzeichnis	36
	Lebenslauf	43

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546810_0073

I. EINLEITUNG

Adaequate Eiweißzufuhr ist eine Grundvoraussetzung für die Erhaltung von Leistung und Gesundheit von Mensch und Tier.

Während Pflanzen ihr Protein aus N-, S- und P-haltigen anorganischen Verbindungen aufbauen können, besitzen Tiere diese Fähigkeit nicht. Zur Aufrechterhaltung ihrer Stoffwechselvorgänge sind sie daher auf die laufende Zufuhr von Protein, bzw. dessen Bausteinen, den Aminosäuren, mit der Nahrung angewiesen.

Nur der Wiederkäuer kann mit Hilfe der Mikrobenflora des Pansens aus einfachen N-haltigen Verbindungen Mikrobeneiweiß aufbauen. Dadurch kommt der Qualität des Futtereiweißes beim Wiederkäuer eine weit geringere Bedeutung für Leistung und Gesundheit zu, als bei monogastrischen Tieren.

Die Zufuhr aller essentiellen Aminosäuren soll möglichst gleichzeitig erfolgen. Bei Verabreichung einer einzigen Aminosäure in zeitlichem Abstand von der Zufuhr aller anderen ist dem Tier eine genügende Verwertung unmöglich (Geiger, E., 1948, Almquist, H.J., 1947). Ebenso erfolgt eine ungenügende Verwertung des Nahrungseiweißes bei Störung des Mengenverhältnisses der einzelnen Aminosäuren (Harper, A.E., 1959). Fehlen adaequate Proteinmengen in der Diät, so erfolgt eine Verzögerung des Wachstums, unter Umständen sogar ein Gewichtsrückgang.

Bei monogastrischen Tieren haben sich große Anteile animalischen Eiweißes in den verschiedenen Diäten als besonders günstig erwiesen. Tierisches Eiweiß weist meist eine bessere biologische Wertigkeit auf als pflanzliches Protein, und tierische Eiweißfuttermittel enthalten zudem mehr Mineralstoffe und Vitamine.

Mineralien und Vitamine können heute jedoch in entsprechenden Mengen in Reinsubstanz zugesetzt werden, sodaß einer Verringerung des tierischen Eiweißanteiles in Rationen für Nichtwiederkäuer nichts mehr im Wege steht, wenn dieser durch hochwertiges pflanzliches Protein ersetzt wird (Brüggemann, Zucker, Weber 1960).

Einem möglichst ökonomischen Umgang mit den zur Verfügung stehenden Futterproteinen kommt deshalb große Bedeutung zu, weil hochwertiges Protein in konzentrierter Form auf der ganzen Welt knapp und teuer ist.

Ein wirtschaftlicher Einsatz des verfügbaren Futterproteins kann auf zwei Wegen erreicht werden:
Die erste Möglichkeit besteht in der Ergänzung des Futters mit Aminosäuren in reiner Form. Diese ist für Futterzwecke - von wenigen Einzelfällen abgesehen - zur Zeit noch zu teuer.

Der zweite Weg ist eine Kombination von verschiedenen Proteinen, deren Aminosäurengehalte sich gegenseitig gut ergänzen.

Eine Kombination soll für die betreffende Tierart alle essentiellen Eiweißbausteine in optimalen Mengenverhältnissen enthalten. Eine wirtschaftliche gegenseitige Ergänzung der Proteine in solchen Ergänzungen hat eine genaue Kenntnis des Aminosäurenbedarfs zur Voraussetzung. Weiterhin ist dazu eine genaue Kenntnis der im Eiweißfuttermittel enthaltenen, insbesondere aber der verfügbaren Mengen der einzelnen Aminosäuren notwendig.

Einige pflanzliche Eiweißfuttermittel enthalten Substanzen, welche durch Behinderung der Freisetzung von Aminosäuren die "effektive Proteinqualität" herabsetzen und dadurch wachstumshemmend wirken (Liener, I.E., 1953). Bei anderen Eiweißfuttermitteln leidet die Verfügbarkeit einzelner Aminosäuren infolge der bei der Verarbeitung angewandten Erhitzung.

Will man daher Eiweißkombinationen oder auch Ergänzungen mit einzelnen Aminosäuren wirtschaftlich anwenden, d.h. die mangelnde Aminosäure zuführen und einen Überschuß an einer oder mehreren Aminosäuren vermeiden, so ist die Kenntnis der Verfügbarkeit der einzelnen Aminosäuren unerläßlich.

II. LITERATURÜBERSICHT

1. Proteinbewertung

Der Proteingehalt eines Futterstoffes allein ist kein geeigneter Maßstab für seinen Wert in der Proteinernährung.

Der Proteinwert hängt ab von der Verdaulichkeit des Proteins und von der Aminosäurenzusammensetzung des gleichzeitig zur Resorption gelangenden Anteils.

Einige Eiweißfutterstoffe enthalten in rohem Zustand Fermenthemmstoffe und andere Wachstumsinhibitoren. Diese können durch genau kontrollierte Erhitzung weitgehendst eliminiert werden. Vom Grad der angewandten Erhitzung hängt dann die Qualität des betreffenden Futterstoffes als Eiweißfuttermittel ab.

Borchers und Mitarb. (1948), Liener und Mitarb. (1949) und Riesen (1947) führen die unterschiedliche Eiweißqualität von Sojaschroten auf einen in rohen Sojabohnen enthaltenen Fermenthemmstoff, das sogenannte Antitrypsin, zurück.

Liener und Pallansch (1952) und Liener (1953) weisen ferner in rohen Sojabohnen ein toxisches Protein, das sogenannte Sojin nach, welches mit dem Trypsininhibitor vergesellschaftet ist. Dieses begrenzt bei der Ratte in unspezifischer Weise die Futteraufnahme und führt dadurch zu Wachstumsdepressionen. Ham und Mitarb. (1945) erhielten bei Kükenrationen, deren Hauptproteinquelle Sojaschrot war, einen Wachstumsstillstand. Sie führen diesen auf eine unvollständige intestinale Proteolyse zurück. Diese begrenzt die Verfügbarkeit von bestimmten Aminosäuren, besonders die des Methionins.

Einer Herstellungserhitzung gegenüber zeigen sich nicht alle Aminosäuren gleich resistent.

So berichten Kuiken (1952), Kratzer u. Mitarb. (1954), Riesen, Clandinin u. Mitarb. (1947) über eine Zerstörung von Lysin durch die bei der Herstellung von Baumwollsaat-, Rapssaatmehl und Sojaschrot angewandte Erhitzung. Zu der gleichen Feststellung kommen Morrison u. Mitarb. (1953), Patrick (1953), Milligan und Bird (1951) und Eldred und Rodney (1946).

Eine Zerstörung von Lysin durch Erhitzung bei der Herstellung und bei zu dichter Lagerung von Futterstoffen weisen ferner Mauron u. Mitarb. (1955) in frischer, gekochter und sprühgetrockneter Milch, Tarr u. Mitarb. (1954) und und Lea, Parr und Carpenter (1960) bei Fischmehl nach.

Almquist und Maurer (1953) und Evans und Butts (1949) vertreten die Ansicht, daß die ε -Aminogruppe des Lysins bei Erhitzung instabil ist oder zum Eingehen neuer Verbindungen neigt. Obwohl so gebundenes Lysin durch chemische Analyse nachgewiesen werden kann, kann es bei der Verdauung nicht freigesetzt werden und ist für das Tier nicht mehr verfügbar.

Die einfachste Art einer Schätzung der Proteinqualität ist ein Vergleich mit einem Standardprotein in einer sonst vollwertigen Diät. Die hieraus resultierende relative Gewichtszunahme bildet den Maßstab für den Nährwert des Testproteins.

Im allgemeinen wird der Proteingehalt dabei niedriger gehalten, als es ein optimales Wachstum erfordern würde. Ein hoher Proteingehalt der Ration erschwert die Beurteilung, da die Differenzen zwischen Tieren, welche mit hochwertigem Eiweiß gefüttert werden, und Tieren, die Protein minderer Qualität bekommen, dadurch geringer werden. Die so erhaltenen Werte stellen Schätzwerte für die praktische Fütterung dar und dürfen nicht als biologische Wertigkeit bezeichnet werden.

Thomas (1909) führt den Begriff der "biologischen Wertigkeit" ein, wonach ein Eiweiß danach bewertet wird, wieviel Gramm Körpergewicht durch Zufuhr des Nahrungseiweißes vor dem Abbau bewahrt werden können. Den höchsten biologischen Wert besitzt Eiweiß, welches alle Bausteine im richtigen Verhältnis liefert. Diese Methode wurde von Mitchell (1924) modifiziert. Danach wird der Prozentsatz des absorbierten N, welcher zur Aufrechterhaltung des Körpergewichts und eventueller Zunahmen verwendet wird, als biologische Wertigkeit bezeichnet.

Zur Bruttobewertung von Eiweißstoffen halten Cannon, u. Mitarb. (1944) ausgewachsenen Ratten solange auf proteinfreier Diät, bis sie etwa 30 % ihres ursprünglichen Gewichts eingebüßt haben. Durch Gabe von verschiedenen Testproteinen in gleichen Mengen stellen sie Differenzen in der Gewichtszunahme pro Futtereinheit fest. Oser (1951) und in ähnlicher Weise Mitchell und Block (1946) modifizieren die oben angegebenen Verfahren von Thomas und Mitchell.

Danach hat das Eiweiß, welches nach Eiweißhunger ein N-Gleichgewicht ergibt, ohne damit die N-Ausscheidung im Harn zu erhöhen, den Wert 100. Da Eiprotein diese Bedingung erfüllt, ergibt die Zusammensetzung des Eiproteins einen Vergleichsmaßstab zur Testung von Eiweißquellen.

Alle eben angeführten Methoden bedürfen bei exakter Durchführung der Bestimmung der N-Bilanz. Die Bewertung eines Proteins nach der biologischen Wertigkeit und nach ähnlichen Verfahren hat einen entscheidenden Nachteil:

Die biologische Wertigkeit der einzelnen Eiweißfuttermittel läßt bei einer Kombination von verschiedenen Eiweißquellen keinen Schluß auf die resultierende Wirkung zu.

Ein Beispiel hierfür gibt ein von Almquist (1947) durchgeführter Kükenversuch unter Verwendung von Soja- und Sesamschrot.

Eine Analyse von Sesamschrot ergibt einen ungewöhnlich hohen Gehalt an Methionin und Tryptophan. Ist Sesamschrot aber die einzige Proteinquelle der Ration, so ergibt sich eine relative Wachstumszahl von nur 21. Demgegenüber weist Sojaschrot einen Überschuß an Lysin und einen Mangel an Methionin auf und ergibt ein relatives Wachstum von 84. Eine Kombination beider Eiweißquellen aus 1/3 Sesamschrot und 2/3 Sojaschrot hingegen ergibt eine hervorragende Proteinquelle für das Küken.

Eine biologisch vollwertige Eiweißernährung, die gleichzeitig Überschüsse vermeidet, setzt also - neben der Kenntnis des Bedarfs für die entsprechende Leistung - eine genaue Kenntnis des Gehalts an tatsächlich verfügbaren Aminosäuren voraus.

2. Bestimmung des Aminosäurenbedarfs

Wie bereits ausgeführt, beruht der Nahrungswert eines Proteins auf seiner Fähigkeit den Aminosäurenbedarf eines Tieres zu decken. Für die Ermittlung dieses Bedarfs dienen im allgemeinen maximale N-Retention bzw. maximales Wachstum als Kriterium. So bestimmte Rose (1937) mit synthetischen Aminosäuren erstmals den quantitativen Aminosäurenbedarf bei verschiedenen Tieren. Doch waren diese Diäten in vieler Hinsicht noch recht unvollkommen. Gemäß dem damaligen Stand der Kenntnis war eine ausreichende Versorgung mit Mineralstoffen und Vitaminen nicht voll gewährleistet und Imbalanzen von Aminosäuren konnten nicht mit genügender Sicherheit ausgeschlossen werden.

Es ist deshalb nicht verwunderlich, daß mit diesen Rationen oft Gewichtszunahmen erreicht wurden, welche wesentlich unter den allgemein als optimal erachteten Werten lagen.

Seitdem Rose (1938) die für die Ratte essentiellen Aminosäuren ermittelte und für maximales Wachstum eine bestimmte Menge der jeweiligen Aminosäure für erforderlich fand, wird die Körpergewichtszunahme allgemein als ein hinreichend genaues Kriterium für die Ausgeglichenheit einer Diät angesehen. Rosenberg u. Mitarb. (1957), Klain und Scott (1958), und Klain und Scott (1960) bestimmen in ähnlicher Weise mit "vollsynthetischen" Aminosäurendiäten, welche bei 10 Tage alten Küken eine Tageszunahme von 9 - 11 g erlauben, den Bedarf des wachsenden Kükens an essentiellen Aminosäuren.

Auch hier erfolgt die Bestimmung an Hand der Gewichtszunahmen. Die jeweils durch Verfütterung graduierter Mengen als optimal gefundenen Mengen an L-Aminosäuren wurden den folgenden Rationen der Versuchsreihe zugesetzt.

In ähnlicher Weise bestimmen Edwards u. Mitarb. (1958), Anderson u. Mitarb. (1958), Grimminger u. Mitarb. (1957), Fisher u. Mitarb. (1957), Fisher (1956), Krautmann u. Mitarb. (1957) den Arginin-, Tryptophan-, Phenylalanin-, Threonin- und Histidinbedarf von Küken.

Erachten Rosenberg und Klain diejenige Menge einer Aminosäure, welche optimales Wachstum erlaubt, als Bedarf, so bezeichnet Hegsted (1948) die geringste Aminosäurenmenge als Bedarf, welche ein Wachstum ergibt, das kaum von der Gewichtszunahme bei "optimaler" Aminosäurenmenge abweicht.

Bei entsprechender Versuchsanordnung kann die N-Bilanz ebenfalls als ein für die Aminosäurenbedarfsbestimmung hinreichend genaues Kriterium erachtet werden. Von diesen allgemein geläufigen Methoden weichen Williams, Curtin u. Mitarb. (1954) wesentlich ab. Sie bestimmen die absoluten, bzw. relativen Aminosäurenbeträge im Tierkörper und schließen aus den ermittelten Werten auf den Bedarf des Tieres an den entsprechenden Aminosäuren.

3. Bezugsgrößen für die Bedarfsangabe

Die Bedarfsangaben für die einzelnen Aminosäuren werden in der Literatur recht unterschiedlich gehandhabt.

Zum Teil nimmt man die von einem Tier von definierten Wachstumsstadium pro Einheit Körpergewichtszuwachs (oder N-Ansatz) und Tag benötigte Menge der betreffenden Aminosäure als Bezugsgröße.

Die Angabe ist dabei ziemlich unabhängig von Diätvariablen und von der mengenmäßigen Futteraufnahme. Da der Aminosäurenbedarf der Aufnahme an Energie etwa proportional ist, wird der Bedarf für praktische Bedürfnisse weitaus besser auf die Energieaufnahme bezogen.

Erachtet man den Energiegehalt der Futtertrockensubstanz als verhältnismäßig konstant, so kann die Bedarfsangabe auch in Einheiten pro kg Trockensubstanz vorgenommen werden. Erfolgt die Angabe in dieser Weise, so ändert sich der Bedarf weniger mit Gewichtsveränderung der Tiere, da die Nahrungsaufnahme proportional dem Körpergewicht erfolgt.

Diese Art der Bedarfsangabe ist somit für eine größere Körpergewichtsspanne von Gültigkeit. Im Gegensatz zu einer Angabe pro Einheit Körpergewicht ist der Bedarf im letzteren Fall von der mengenmäßigen Nahrungsaufnahme und von der Energie- und Proteinkonzentration des Futters abhängig.

Ist der Energiegehalt des Futters sehr hoch, so nimmt das Tier weniger Futter und damit weniger Aminosäuren auf, als bei einer Diät, deren Energiegehalt niedriger, deren Aminosäurengehalt pro kg Trockensubstanz aber gleich hoch ist.

Auf diese Beziehungen weisen Williams und Grau (1955) hin. Durch Verminderung des Energiegehalts der Ration erhielten sie eine Erhöhung der Futter-, und damit auch der Lysinaufnahme.

Schwartz u. Mitarb. (1958) konnten zeigen, daß sowohl eine Erhöhung des Protein-, als auchdes Energiegehalts der Ration den "Bedarf" (angegeben in % der Ration) an Aminosäuren steigerte.

Sie fütterten Küken mit Rationen mit 20 % Protein und unterschiedlichen Energiegehalten. Dabei stieg der Bedarf an Lysin von 1.02 % d.Ration bei 1859 prod. Cal/kg Trockensubstanz auf 1.24 % d. Ration bei 2456 Cal/kg Trockensubsranz an. In weiteren Versuchen wurde der Proteingehalt der Ration auf 23 % erhöht. Hierauf konnte bei einem Energie-

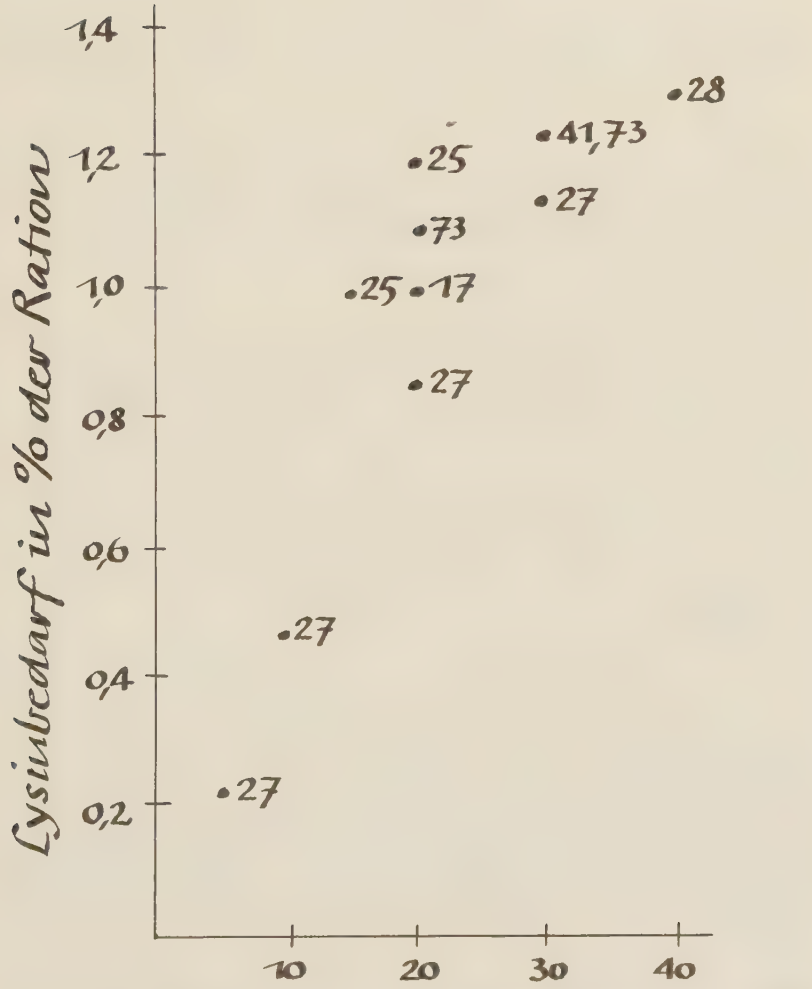
gehalt der Ration von 1859 Cal/kg Trockensubstanz ein Bedarf an Lysin von 1.13 % d. Ration, bei einem Energiegehalt von 2456 Cal/kg Futtertrockensubstanz ein Bedarf von 1.33 % d. Diät ermittelt werden. In ähnlicher Weise können Baldini und Rosenberg (1955) eine enge Korrelation zwischen Methioninbedarf und Energiegehalt der Diät feststellen.

Die Abhängigkeit des Aminosäurenbedarfs vom Proteingehalt der Ration zeigen Versuche von Bressani und Mertz (1956). Sie verfüttern isokalorische Diäten mit verschiedenen Proteingehalten von 4 - 40 % d. Ration. Mit Ausnahme von Lysin enthielten die Diäten alle essentiellen Eiweißbausteine in Mengenverhältnissen, wie sie in Volleiprotein vorkommen. Dabei erhöhte sich der Lysinbedarf mit steigendem Proteingehalt von 0.54 % auf 0.90 % der Diät.

Ähnliche Experimente von Grimminger u. Mitarb. (1956) zeigen bei isokalorischen Diäten von 10, 20 und 30 % Protein der Ration eine Erhöhung des Tryptphanbedarfs von 0.11 % auf 0.29 % und 0.37 % der Ration.

Die engen Beziehungen zwischen Aminosäurenbedarf und Proteingehalt der Ration werden auch aus Abbildung 1 ersichtlich:

Abb. 1
Lysinbedarf für das wachsende Küken



Autor - siehe Literaturverzeichnis)

Die Abbildung veranschaulicht deutlich die Beziehung zwischen Proteinzufuhr und Lysinbedarf, wobei hier berücksichtigt werden muß, daß die unterschiedlichen Versuchsbedingungen der verschiedenen Autoren als zusätzliche Variable zur Auswirkung kommen.

Seit langem ist bekannt, daß junge Tiere einen höheren Proteinbedarf aufweisen als erwachsene. Da aber Protein die Summe der Aminosäuren darstellt, ist es wahrscheinlich, daß schnelles Wachstum einen höheren Aminosäurenbedarf bedingt als langsameres.

So weisen Edwards und Norris (1956) eine enge Beziehung zwischen Lysinbedarf und Wachstumsintensität bei Küken nach. Bei einer Diät mit 20,5 % Protein benötigen schnellwachsende Kreuzungsküken 1,1 % Lysin in der Diät, langsamwachsende weiße Leghornküken dagegen nur 0,9 % Lysin, um bestes Wachstum zu erreichen.

Im Gegensatz zu Edwards konnten Grimminger und Scott (1959) keine Korrelation zwischen Wachstumsintensität und Aminosäurenbedarf (angegeben in % d. Ration) feststellen. Sowohl langsamwachsende als schnellwachsende Küken zeigten optimales Wachstum bei einem Lysingehalt der Ration von 1,03 %. Eine optimale Futterverwertung konnte bei langsamwachsenden Tieren jedoch erst bei einem Lysingehalt der Diät von 1,13 % erreicht werden. In weiteren Versuchen wurde den Rationen noch ein wachstumshemmender Stoff (Quillaja Saponin) zugesetzt. Aber auch hierbei änderte sich der für das jeweilige maximale Wachstum nötige Bedarf nicht.

Schließlich infizierten Grimminger und Scott die Tiere mit Bronchitisviren - was eine beträchtliche Wachstumshemmung zur Folge hatte - und erreichten einheitlich bei Versuchs- und Kontrollgruppe maximale Gewichtszunahmen bei einem Lysingehalt der Ration von 1,11 %.

Kratzer und Mitarb. (1956) bestimmen bei Truthühnern den Protein- und Lysinbedarf von der ersten bis zur 24. Lebenswoche. Dabei nahm der Lysinbedarf in den ersten Wochen sehr rasch zu, fiel dann allmählich bis zu einer bestimmten Grenze ab und blieb dem Proteingehalt der Ration proportional.

Fisher und Mitarb. (1956) zogen Eintagsküken 14 Tage lang mit einer vollwertigen Ration auf. Nach dieser Zeit wurde die Hälfte der Küken N-frei ernährt, der Rest aber mit der Standarddiät weitergefüttert. Hier-

auf bekamen alle Tiere eine Grunddiät mit verschiedenen Protein- und Lysingehalten. Die Tiere der Standardgruppe zeigten optimales Wachstum bei einer Ration mit 0,9 - 1,0 % Lysin und 16 % Protein.

Die N-frei gehaltenen Küken, als "physiologisch jüngere" Tiere, benötigten jedoch eine Ration mit 1,2 % Lysin und 20 % Protein.

Neben dem Einfluß des Energie- und Proteingehaltes der Ration und der Wachstumsintensität auf den Aminosäurenbedarf zeigen die einzelnen Tierspezies große Unterschiede. Einschlägige Arbeiten bis zum Jahre 1956 behandelt Almquist (1957) in einer Übersicht. x)

Rassen- und individuelle Unterschiede treten beim Aminosäurenbedarf ebenfalls auf. Im Vergleich zu den Bedarfsunterschieden, die zwischen Rassen und Individuen beim Vitamin- und Mineralstoffbedarf gefunden wurden, sind sie jedoch verhältnismäßig gering.

All diese Fehlerquellen lassen sich zu einem großen Teil vermeiden, wenn man die Proteinkonzentration der Futterrationen zur Bezugsgröße nimmt.

Eine Angabe des Bedarfs in % des Rohproteingehalts der Diät bietet einen Vorteil in der Bewertung des Proteins verschiedener Eiweißfutterstoffe. Dies wird durch ein einfaches Beispiel veranschaulicht:

Das Protein von Erdnußschrot enthält 3,5 % Lysin; der Bedarf des wachsenden Kükens beträgt jedoch 4,5 % des Gesamtproteins der Ration. Wird Erdnußschrot als einzige Proteinquelle von Kükenrationen verwendet, so weist diese somit einen beträchtlichen Mangel an Lysin auf. Der Bedarf ist bei dieser Art der Angabe weitgehend unabhängig von der Menge des aufgenommenen Futters, vom Energie- und Proteingehalt der Diät und vom Wachstumsstadium der Tiere.

---

x) Nach Almquist (1957) ist der Bedarf von Hund, Katze und Schwein dem Bedarf der Ratte ähnlich. Das Küken hingegen deckt seinen Argininbedarf gänzlich aus der Nahrung. Glykokoll, Glutaminsäure und Prolin können vom Küken nicht synthetisiert werden, d.h. diese Aminosäuren sind für Geflügel essentiell und müssen mit der Nahrung zugeführt werden.

5. Aminosäurenbestimmung in Futtermitteln

Mit Hilfe der üblichen Futtermittelanalyse wird der gesamte Amino-N als Rohprotein erfaßt und es ist allenfalls noch eine Differenzierung in verdauliches und unverdauliches Protein möglich.

Eine analytische Ermittlung der Qualität des Nahrungsproteins ist hingegen nur durch eine Aminosäurenanalyse möglich (Brüggemann und Drepper, 1952).

Die Entwicklung von chemischen Methoden zur Bestimmung der quantitativen Verteilung von Aminosäuren in Nahrungsproteinen wurde insbesondere durch die Entdeckung der Essentialität einer Reihe von Aminosäuren angeregt. Dabei beschränkten sich die früheren Arbeiten hauptsächlich auf die quantitative Erfassung von Aminosäuren aus reinem Protein.

Die Proteine wurden chemisch oder enzymatisch in ihre Baustein zerlegt und diese dann gewichtsmäßig erfaßt. Später überführte man die Aminosäuren in unlösliche Derivate, welche leichter abzutrennen waren.

Ob nun isolierte Proteine oder Futterstoffe analysiert werden, der erste Schritt bei diesen Methoden ist im allgemeinen eine Hydrolyse zur Freisetzung der Aminosäuren.

Die Reingewinnung des Hydrolysats ohne wesentliche Aminosäurenverluste, sei es durch Zerstörung während des Hydrolyseprozesses oder durch Nichteiweißsubstanzen, welche den Hydrolyseablauf stören, stellt eines der größten Probleme dar. Durch Einführung der Säurehydrolyse für bestimmte Aminosäurengruppen und der Alkalihydrolyse für eine andere Aminosäurengruppe und weiterer spezifischer Methoden konnten diese Schwierigkeiten größtenteils überwunden werden.

Alle Verfahren zur Isolierung der einzelnen Aminosäuren sind zur Gewinnung der natürlichen Aminosäuren und ihrer präparativen Herstellung heute noch gebräuchlich. Für die quantitative Bestimmung der Aminosäuregehalte in Futterstoffen sind sie aber zu ungenau oder zu aufwendig. Eine neuere Methode führt die einzelnen Aminosäuren durch mehr oder weniger spezifische Reagentien in colorimetrisch bestimmbare Substanzen über. Störende Futterbegleitsubstanzen können hierbei große Ungenauigkeiten verursachen.

Die meisten der heute vorliegenden Angaben über den Aminosäuregehalt wurden jedoch durch mikrobiologische Verfahren erhalten.

Gewisse Mikroorganismen, vor allem Protozooen, aber auch einige Bakterien, vermehren sich nur, wenn ihr Nährboden die für sie lebensnotwendigen Aminosäuren enthält. Fehlt eine Aminosäure, so sistiert das Wachstum, setzt man die betreffende Aminosäure aber zu, so findet wieder eine Vermehrung statt.

Die Populationszunahme oder Stoffwechselleistungen, wie die Milchsäurebildung, ermöglichen eine quantitative Aminosäurenbestimmung. Dabei ist es nicht nötig das Protein vor der Hydrolyse von Nichteiweißsubstanzen des Futters abzutrennen, da Kohlehydrate und andere pflanzliche Komponenten meist nicht interferieren.

Die Durchführung dieser Methode ist daher einfach und nur geringe Mengen an Material sind erforderlich. In bestimmten Fällen ergibt ein besonderer Mikroorganismus zuverlässigere Werte als andere Arten. Lyman, Kuiken und Hale (1956) bestimmen auf diese Weise mit Leuconostoc mesenteroides P 60 Lysin und Methionin.

Ganz ähnlich führen Gupta u. Mitarb. (1958) bei Rattenversuchen eine Bestimmung von Lysin in Futter und Faeces durch.

Eine weitere Methode der quantitativen Bestimmung von Aminosäuren bedient sich spezifischer decarboxlierender Enzyme und mißt die entstandenen Kohlendioxydmenge. Abgesehen vom Aufwand der Zubereitung dieser Fermente ergibt diese Methode sehr genaue und zuverlässige Werte. Für die Aminosäurebestimmung bei Futtermitteln geeignet ist auch die von Cordson, Gordon und Martin (1944) entwickelte papierchromatographische Methode. Sie wird heute in vielen Abwandlungen durchgeführt. Die Verteilungschromatographie nach Moore und Stein (1951) erlaubt eine quantitative Auftrennung fast aller Aminosäuren mit nur geringen Substanzverlusten und großer Genauigkeit. Sie stellt heute die Methode der Wahl dar.

5. Die besondere Bedeutung von Lysin in der Eiweißernährung

Am Aufbau des Körpergewebes hat Lysin mengenmäßig einen hohen Anteil. Das Tier hat demzufolge, im Vergleich zu den meisten anderen Aminosäuren, auch einen hohen Bedarf an dieser Aminosäure.

Diesem erhöhten Bedarf gegenüber ist Lysin in den meisten pflanzlichen Proteinen nur in relativ geringer Menge enthalten. Durch die bei der Herstellung angewandte Erhitzung und zum Teil auch durch die Lagerung der Futtermittel wird dieser ursprünglich schon geringe Lysingehalt noch in seiner Verfügbarkeit verringert. In der Tierernährung macht jedoch pflanzliches Protein notwendigerweise, selbst bei reichlicher Verwendung von tierischen Eiweißfuttermitteln, einen hohen Anteil der Gesamtproteinzufuhr aus.

Aminosäureimbalanzen x) oder Mangel an einer Aminosäure äußern sich in mehreren Symptomen. Stets und am frühesten treten die unspezifischen Störungen auf: Wachstumsverminderung und Verringerung der Futteraufnahme. Hinzu treten Leberschäden und bei Küken Störungen der Ausbildung des Gefieders.

Fisher und Grimminger (1960) zeigen durch Verfütterung einer Lysinmangeldiät an Küken, daß die Unausgeglichenheit der Ration, d.h. das gestörte Verhältnis der limitierenden Aminosäure zum Gesamtprotein, das Wachstum hemmt. Die Unausgeglichenheit der Diät führt dabei zu Verminderung der Futteraufnahme und damit zu einer verminderten Aufnahme der schon limitierenden Aminosäure.

In ähnlicher Weise fanden Neuberger u. Mitarb. (1945) bei Rattenversuchen Lysin als unbedingt erforderlich zur Aufrechterhaltung des Körpergewichts. Sie stellen fest, daß nur die L-Form der Aminosäure verwertbar ist.

Kratzer (1950) stellt auch bei Truthühnern fest, daß die D-Form des Lysins für Wachstum und Federpigmentation nicht verwertbar ist. Er gelangt ferner zu der Feststellung, eine übermäßige Gabe von D-Lysin hemme das Wachstum nicht nur, sondern führt sogar zu Gewichtsverlusten.

---

x) Unter einer Aminosäureimbalanz wird eine Störung des N-Haushaltes verstanden, die durch hohen Überschuß von einer oder mehreren Aminosäuren selbst dann bewirkt wird, wenn alle anderen Aminosäuren in "bedarfsdeckenden" Mengen im Nahrungsprotein enthalten sind.

Da Getreideprotein stets einen großen Anteil des Gesamtproteins von Geflügelrationen ausmacht, Lysin aber in allen Getreidearten nur in geringer Menge enthalten ist, wurden viele Versuche unternommen, den Proteinbedarf des Geflügels durch lysinergänztes Getreide zu decken.

Eine Zugabe von Lysin zu einer sonst vollständigen Getreideration erhöht dabei die Gewichtszunahme und verbessert die Futterverwertung. Wird Lysin aber im Übermaß zugeführt, so kommt es erneut zu einer Aminosäureimbalanz und damit wiederum zu schlechten Gewichtszunahmen (March u. Mitarb. 1950).

Auch Ratten zeigen bei Getreideproteindiäten ein besseres Wachstum, wenn Lysin zugesetzt wird. Dieses mit Lysin ergänzte Getreideprotein ist nach Osborne und Mendel (1914) tierischem Eiweiß jedoch qualitativ noch etwas unterlegen.

In gleicher Weise füttern Pecora und Hundley (1951) Ratten mit lysin- und threoninergänzten Reisdiät und erhalten damit bessere Gewichtszunahmen als mit nicht ergänztem Reis.

Rosenberg u. Mitarb. (1952) können den Nährwert von Brot, gemessen an der Gewichtszunahme von Ratten, durch Lysinzugabe verdoppeln.

Wachstumsdepressionen bei Verfütterung von Lysinmangeldiäten an Ratten erhalten auch Harris u. Mitarb. (1943) und Janke und Schuck (1957). Haggar und Mitarb. (1955) stellen bei jungen Ratten eine Verlangsamung des Epiphysenwachstums als Folge eines Lysinmangels fest. Ähnlich wie bei zurückgesetzter Futtergabe kam es dabei zu stetigem Gewichtsverlust, verzögertem skelettalen und visceralen Wachstum und zur Atrophie des subkutanen Fettgewebes und der Muskulatur.

Neben der negativen Auswirkung des Lysinmangels auf die Gewichtszunahmen der Tiere, wie sie auch bei jeglichem Mangel an essentiellen Aminosäuren beobachtet werden kann, tritt im Falle eines Lysinmangels bei farbigen Geflügel sehr häufig eine Depigmentation des Gefieders auf. Sie ist eines der wenigen Beispiele von spezifischen Symptomen, welche durch inadäquate Gaben von bestimmten Aminosäuren hervorgerufen werden. So konnten Klain u. Mitarb. (1957) bei gesperberten Plymouth Rock, schwarzen Australorps und New Hampshire x gesperberten Plymouth Rock durch eine Lysinmangeldiät, deren Hauptbestandteil Sonnenblumenkernschrot war, eine Achromatose des Gefieders hervorrufen.

Ebenfalls durch Verfütterung einer Lysinmangeldiät an gesperberte Plymouth-Küken beiderlei Geschlechts können Klain u. Mitarb. (1956) eine Depigmentation erzeugen. In geringem Ausmaß gelang dies auch bei Black Australorp-Küken. Weiterhin wird von ihnen berichtet, daß Folsäure-, Kupfersulfat- und Tyrosingaben diese Depigmentation nicht verhindern konnten. Owings und Balloun (1959) rufen durch Verfütterung einer halbsynthetischen Lysinmangeldiät bei New Hampshire-Küken gleichfalls eine Depigmentation hervor. Auf Grund der erniedrigten Tyrosinaseaktivität achromatösen Gefieders kommen sie zu dem Schluß, Lysinmangel vermindere die Aktivität des Ferments Tyrosinase und damit die Melaninbildung in den Federn. Eine sehr geringe Tyrosinaseaktivität der Federpulpa bei mit einer Lysinmangeldiät ernährten Putenküken finden auch Kratzer und Vohra (1956).

Klain u. Mitarb. (1960) hingegen konnten mit einer halbsynthetischen Diät, welche einen Lysingehalt von nur 0.5 % d. Ration aufwies, bei gesperberten Plymouth Rock-Küken keine Achromatose hervorrufen. Selbst eine Zugabe von anderen Aminosäuren in reiner Form und damit eine Verstärkung der Aminosäureimbalanz hatte keinerlei Wirkung auf die Federpigmentation. Eine Achromatose des Gefieders konnte erst bei einem Lysingehalt von weniger als 0.5 % der Ration hervorgerufen werden.

Es ist fraglich, ob eine Depigmentation bei Lysinmangel auf eine gestörte Proteinsynthese zurückzuführen ist, oder ob sie als ein Ergebnis des Einflusses nichtpeptidischer Hormone, welche vom Lysin abhängig sind, aufzufassen ist.

Werden beide, Gewichtszunahme und Pigmentation, auf die Proteinfunktion des Lysins bezogen, dann kann eine einmalige tägliche Gabe von Lysin weder die Gewichtszunahme verbessern noch die Depigmentation aufheben, da keine wesentliche Speicherung von Aminosäuren im Körper stattfindet, zu Proteinsynthesen aber alle dafür benötigten Aminosäuren gleichzeitig vorhanden sein müssen.

Zieht man jedoch die Extraproteinfunktion des Lysins in Betracht, so dürfte die Gegenwart oder das Fehlen von anderen Aminosäuren den Bedarf an Lysin nicht beeinflussen und normale Pigmentation wäre das Ergebnis einer einmaligen täglichen Dosis.

Vohra und Kratzer (1957) stellen eine enge Koppelung von Gewichtszunahme und Depigmentation fest. Eine Verabreichung von Lysin in stoß-

artigen Dosen zu einer sonst vollwertigen Ration zeigte schlechte Zunahmen und schlechte Pigmentation. War derselbe Betrag jedoch laufend in der Nahrung enthalten, so wurden Wachstum und Pigmentation verbessert.

Aus diesen Versuchen geht hervor, daß Lysin auch bei der Federpigmentation für eine dafür erforderliche Proteinsynthese benötigt wird und keine Extraproteinfunktion ausübt.

Von all den oben angeführten Erscheinungen ist die Wachstumsverzögerung von größter wirtschaftlicher Bedeutung. Eine wirtschaftliche Anwendung von Eiweißfutterkombinationen, d.h. in unserem Fall eine Deckung des Aminosäurenbedarf mit der Nahrung, ist erst gewährleistet, wenn die verfügbaren Lysinmengen aller Rationsproteine möglichst genau bekannt sind.

Verläßlichen Verfahren zur Bestimmung des verfügbaren Lysins in Futtermitteln kommt deshalb große praktische Bedeutung zu. Die vorliegenden Untersuchungen dienen der Erarbeitung von Grundlagen zur möglichst genauen Bestimmung des verfügbaren Lysins in Eiweißfuttermitteln mit Hilfe eines schnell durchführbaren Kükentests.

Bisherige Versuche zur Bestimmung des verfügbaren Lysins im Kükentest gingen von der Verwendung außergewöhnlich teurer Aminosäurendiäten aus (Ousterhout 1959), wodurch die Tierzahl und damit die Meßgenauigkeit von vornherein begrenzt ist. Zudem erscheint die Spezifität für Lysin nicht genügend gesichert, solange das Testmaterial nur in einer Konzentration geprüft und der Einfluß anderer Aminosäuren bzw. von lysinfreiem Protein auf die Ergebnisse nicht geprüft ist.

III. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

Versuchsziel

Hauptzweck der Versuche war die Prüfung eines Verfahrens zur Bestimmung der Lysinverfügbarkeit in handelsüblichen Eiweißfuttermitteln bzw. in Proteinpräparationen. Als Kriterium für den Gehalt an verfügbarem Lysin dienten die Gewichtszunahmen, welche ein Zusatz dieser Eiweißstoffe zu einer lysinarmen Grundration bewirkte. Der Gehalt an verfügbarem Lysin der jeweils zur Testung gelangenden Eiweißquelle sollte durch Vergleich der mit graduierten Lysinmengen erhaltenen Gewichtszunahmen ermittelt werden. Als Voraussetzung für dieses Verfahren sollten die Versuche zuerst folgende Fragen beantworten:

1. Wie hoch ist der Lysinbedarf des wachsenden Kükens, bzw. die optimale Lysinkonzentration in der Versuchsdiät?

2. Verhalten sich die Gewichtszunahmen in Bezug auf lineare Lysinzugaben zur lysinarmen Diät ebenfalls linear?

Nach Prüfung dieser Fragen (Versuch 1) war zu untersuchen, ob Zusätze von lysinfreiem Protein, bzw. Glutaminsäure, d.h. eine Veränderung der Nicht-Lysin-N-Zufuhr, die durch Lysin bewirkten Zunahmen verändern (Versuch 2).

Schließlich wurde die Brauchbarkeit des Verfahrens an gereinigten Proteinpräparationen von annähernd bekanntem Gehalt an Gesamtlysin geprüft (Versuch 3).

Material und Methodik:

a) Tiermaterial und Einteilung der Tiere:

Als Versuchstiere dienten ausschließlich männliche Tiere einer Mastkreuzung (Nichols-Lohmann-Küken, Lohmann und Co., Cuxhaven). Die außerordentlich hohe Wachstumsgeschwindigkeit macht diese Tiere für Wachstumsuntersuchungen besonders geeignet und erhöht die Präzision des Verfahrens.

Da die Ernährung der Küken in den ersten 3 - 5 Lebenstagen noch teilweise über den Dottersack erfolgt und die Wirkung der zugeführten Futterstoffe in dieser Zeit nicht präzis genug ermittelt werden kann, erhielten die Tiere während der ersten 7 Lebenstage eine Vorbereitungsdiät.

Diese Vorration deckt den Bedarf des wachsenden Kükens an allen essentiellen Nahrungsfaktoren und hat eine ähnliche Zusammensetzung wie die darauffolgende Versuchsration. Umstellungsschwierigkeiten auf die Versuchsdiät wurden damit vermieden.

Die Zusammensetzung der Vordiät zeigt Tab. 1

Tabelle 1

Zusammensetzung der Vordiät

Fischmehl	10.0
Sojaschrot	25.0
Maiskleber	10.0
Grünmehl	2.0
entzuckerte Trockenmolke	2.0
getrocknete Fishsolubles	1.0
raff. Sojaöl	10.0
Glukose	37.4
Calciumcarbonat	0.2
Dicalciumphosphat	1.2
Kochsalz jod.	0.2
"Wirkstoff-Vormischung"	1.0
	100.0

Proteingehalt: 26.6% Energiegehalt: 2033 prod. Cal.

Über die "Vormischung" wurden pro kg der fertigen Ration eingebracht: 5000 IE Vitamin A; 1000 IE Vitamin D_3; 20 mg Vitamin E; 0.01 mg Vitamin B_{12}; 5 mg Vitamin B_2; 1 mg Vitamin B_1; 500 mg Cholinchlorid; 1 mg Vitamin K_3; 30 mg Nicotinsäure; 100 mg Mangansulfat.

Zur Einengung der Variabilität wurden die Küken nach der 7-tägigen Vorperiode einzeln gewogen, nach Gewichtsklassen sortiert und mit Geflügelmarken versehen. Extrem schwere und extrem leichte Tiere wurden ausgeschieden. Hierauf wurden gleichschwere Versuchsgruppen von je 6 Küken gebildet.

b) Unterbringung und Fütterungstechnik

Zur Unterbringung dienten Räume, deren Fenster mit rotem, durchsichtigem Ölpapier bespannt waren. Hierdurch wurde eine gleichmäßige Lichtverteilung erreicht. Zur Verlängerung der Freßzeit waren die Räume bei Tag und Nacht zusätzlich beleuchtet.

Zur Beginn der Versuche wurde die Raumtemperatur durch Aufstellung zusätzlicher Heizkörper in den warmluftgeheizten Räumen auf 32 ^{o} C gehalten. Bis zum 14. Lebenstag der Küken wurde sie allmählich auf 28 ^{o} C verringert. Die relative Luftfeuchtigkeit lag während der ganzen Versuchsdauer zwischen 50 - 70 %. Zur zugfreien Be- und Entlüftung waren besondere Schächte nahe der Decke angebracht.

Die Tiere wurden in Batterien auf Drahtgitter mit herausnehmbaren Kotblechen gehalten. Futter und Wasser stand in seitlich angebrachten Gefäßen ad libitum zur Verfügung.

c) Versuchsrationen:

Während der eigentlichen 7-tägigen Versuchsperiode erhielten die Küken eine "halbsynthetische" Diät. Diese Ration enthielt alle essentiellen Aminosäuren - mit Ausnahme von Lysin - in Mengen, welche dem Bedarf des wachsenden Kükens entsprechen.

In den einzelnen Versuchen wurden dieser Grunddiät graduierte Mengen von kristallinem L-Lysin-HCl, bzw. Testprotein zugesetzt. Als Testprotein wurden Fischmehle, Fischmehle mit Zein, bzw. Glutaminsäurezusatz, Gelatine, Casein und Drackettprotein [x)] verwendet. Zur Sicherung der Ergebnisse wurde jede dieser Versuchsdiäten in mindestens zwei Gruppenwiederholungen geprüft. Die Zusammensetzung der Basaldiät zeigt Tabelle 2.

x) Drackett C-1 Assay-Protein ist ein nach besonderen Verfahren isoliertes Sojaprotein von sehr konstanter Zusammensetzung (Archer Daniel Midland Co., Minneapolis)

Tabelle 2

Basaldiätzusammensetzung

Zein	15, 2	
Gelatine	6, 6	
Drackettprotein	4, 4	
Sojaöl	10, 0	
Glukose	54, 8	
Zellulose	1, 0	
Vormischung	3, 0	
Mineralstoffe	5, 0	Gesamtprotein 25, 7 %
	100, 0	

Die Vitamin- und Mineralstoffmischung hat dieselbe Zusammensetzung wie die von Brüggemann und Zucker (1960) in einer halbsynthetischen Diät verwendete. (Lediglich der Zusatz von Antibiotika und Methionin entfällt). Außerdem wurden mit der "Vormischung" die der Ration zur Vollwertigkeit fehlenden Aminosäuren - mit Ausnahme von Lysin (siehe Tabelle 3) - ergänzt. Pro kg der Diät wurden folgende Aminosäuren in kristalliner Form zugesetzt:

L-Arginin-HCl 4, 66 g; L-Histidin-HCl-H_2O 1, 5 g; Dl-Methionin 5, 0 g; Dl-Tryptophan 2, 0 g; L-Threonin 2, 0 g und L-Valin 3, 0 g.

Durch die Vormischung wurden also die Fehlbeträge (vergleiche Tabelle 3) von 0, 4 % Arginin, 0, 1 % Histidin, 0, 5 % Methionin, 0, 2 % Tryptophan, 0, 2 % Threonin und 0, 3 % Valin zugeführt.

Tabelle 3

Aminosäurenzusammensetzung
der Versuchsdiät in % der Diät

(nach im Institut durchgeführten Analysen der verwendeten Proteinpräparationen berechnet)

	aus Protein	aus Aminosäurenzusätzen	Gesamt	Bedarf x)
Arginin	1,07	0,40	1,47	1,44
Lysin	0,52		0,52	1,20
Histidin	0,28	0,10	0,38	0,36
Methionin	0,41	0,50	0,91	0,36
Cystin	0,13		0,13	0,60
Tryptophan	0,05	0,20	0,25	0,24
Glykokoll	1,58		1,58	1,20
Phenylalanin	1,22		1,22	1,08
Threonin	0,54	0,20	0,74	0,72
Valin	0,69	0,30	0,93	0,96
Leucin	3,83		3,83	1,68

x) Bedarf nach Almquist H.J. (1957) für eine Ration mit 20 % Protein.

Die Konzentrationen an Gesamtprotein wie auch an den einzelnen essentiellen Aminosäuren wurden für ausreichend erachtet, nachdem höhere Zulagen aller eventuell limitierenden Aminosäuren zusammen mit Lysin keine Wachstumsbeschleunigung gegenüber Lysin allein erbrachten. Sämtliche zu prüfenden Vergleichs- und Testsubstanzen, wie L-Lysin-HCl, Fischmehl und die Proteinpräparationen wurden auf Kosten einer entsprechenden Menge Glukose der Basalration zugesetzt.

d) Auswertung

Nach 7-tägiger Versuchsdauer wurden die Tiere der einzelnen Gruppen erneut einzeln gewogen. Aus der Differenz vom 14-Tage- und 7-Tagegewicht wurde die Gewichtszunahme jedes Einzeltieres ermittelt. Erhebliche Abweichungen einiger Werte von den anderen Zunahmen der betreffenden Gruppe, welche den Mittelwert der Gruppen und die Streuung

derart beeinflussen, daß das Verhalten der Gesamtheit stark verfälscht würde, wurden nach dem Kriterium von Chauvenet (1953) ausgeschlossen. x)

Aus den sich hierbei ergebenden Kurven war schon annähernd die im Testmaterial verfügbare Lysinmenge ersichtlich. Die numerische Auswertung der Ergebnisse erfolgte nach dem "5 Point Common Zero Test" (Wood, Finney 1946).

5 Point Common Zero Test:

In diesem Test wird die "relative Potenz" (P) der Basalration mit Testproteinzusatz im Vergleich zur "Standardration", d.h. der Basalration mit Zusatz von reinem Lysin ermittelt. Voraussetzung für die Durchführung des Tests ist, daß die Grunddiät mit einer Dosis 1/2 a und einer Dosis 1 a (hier 0.15 %, bzw. 0.30 % Lysin) ergänzt eine Wirkung erwarten läßt, die direkt arithmetisch von der Dosis abhängig ist.

Weiterhin müssen die Wirkungsgeraden, welche sich bei Zusatz von Lysin und Testprotein ergeben, bei Übertragung in ein Koordinatensystem durch den Nullpunkt gehen oder so gelegt werden, daß sie diesen schneiden. Dann gilt folgende Gleichung (vergleiche Abb. 1a):

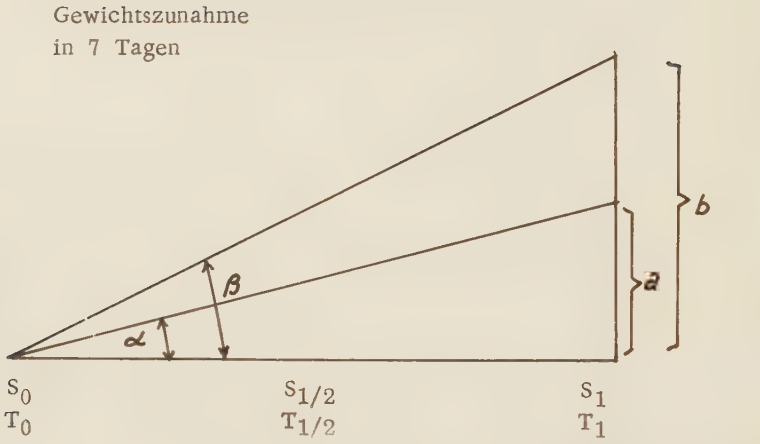
x) Berechnet nach der Formel für

$$s^2 = \frac{\sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{n}}{n-1};$$

s = Streuung, $\sum x^2$ = Summe der Quadrate der Einzelgewichte, $(\sum x)^2$ = Summe der Einzelgewichte zum Quadrat, n = Anzahl der Beobachtungen.
s wird nach Chauvenet mit einer von n abhängigen Konstanten multipliziert, wodurch man Vertrauensgrenzen für auszuschließende Extremwerte erhält.
Z.B. werden bei n = 6 alle Werte verworfen, die außerhalb von x(Mittelwert) $\pm$ s 1,73 liegen.

$$\frac{\operatorname{tg}\alpha}{\operatorname{tg}\beta} = \frac{a}{b} \;;$$

Abb. 1 [a]



S_o/T_o = Grundration ohne Zusatz

$S_{1/2}T_{1/2}$ = Dosiszusatz 1/2 a

S_1T_1 = Dosiszusatz 1 a

a = Zunahme bei Testproteinzusatz

b = Zunahme bei Zusatz von reinem Lysin

Voraussetzung für die Gültigkeit der Gleichung ist das Vorliegen einer linearen Beziehung, d.h. die arithmetische Abhängigkeit ist durch Prüfung der Streuung der 5 Meßpunkte $S_o, S_{1/2}, S_1$ und $S_o, T_{1/2}$ und T_1 sowie ihrer Linearität zu sichern.

Hierzu werden die Gewichtszunahmen der Einzeltiere der Standardgruppe S_o (= Basaldiät ohne Zusatz) tabellarisch aufgetragen. Zugleich wird die Summe

der Einzelgewichte Sx, das mittlere Gewicht M und die Summe der Quadrate der Einzelgewichte sx^2 ermittelt und in die Tabelle eingetragen.

Aus diesen Werten läßt sich das Summenquadrat SQ der Abweichungen vom Mittel nach der Formel

$$SQ = sx^2 - M\ sx$$

berechnen.

In der gleichen Weise werden die Summenquadrate von $S_{1/2}$, S_1, $T_{1/2}$ und T_1 ermittelt und tabellarisch festgehalten. (Vergleiche Tab.!)

Abb. 2 Tabellenbeispiel:

	SQ	n		S_0	$S_{1/2}$	S_1	$T_{1/2}$	T_1
S_0	896	12	sx	277	355	628	403	645
$S_{1/2}$	1090	12	M	23.08	29.58	57.1	33.58	53.75
S_1	1201	11	sx^2	7289	11591	37060	140.37	36539
$T_{1/2}$	1462	12	M sx	6393	10501	35859	13533	34669
T_1	1871	12						
	6520	59-5	SQ	896	1090	1201	504	1870
	6520:54= s^2=120.7							

(Diese Tabelle weist auch die Anzahl der nach Ausschluß nach dem Kriterium von Chauvenet verwendeten Werte der Gruppe auf.)

Nun werden alle Summenquadrate, in gleicher Weise auch die Einzelwerte addiert. Die Subtraktion der Gruppenzahl von der Summe n der Tiere ergibt die Freiheitsgrade zwischen den Gruppen.

Die Division der Summe der SQs durch die Anzahl der Freiheitsgrade ergibt das Quadrat der Streuung zwischen den Gruppen oder die Varianz s^2. (Siehe Abb. 2!)

Die Abweichung der Testproteinkurve S_0, $T_{1/2}$, T_1 und der Standardkurve S_0, $S_{1/2}$, S_1 von der Linearität wird durch die Werte L_T und L_S ermittelt und folgendermaßen bestimmt:

$$\text{Varianz}_L \sqrt{\frac{30\ s^2}{n}} \; ; \quad s_L = \frac{30\ s^2}{n} \; ;$$

Die Linearität L_S der Standardkurve ist gemäß der Forderung, die Wirkung hänge arithmetisch von der Dosis ab, nach folgender Formel zu ermitteln:

$$L_S = M_0 + M_S - 2\ M_{S_{1/2}} \; ;$$

dasselbe gilt für L_T (Linearität der Testproteinkurve):

$$L_T = M_0 + M_T - 2\ M_{T_{1/2}} \; ;$$

Wieweit die Linearität gesichert ist, d.h. wie weit L_S bzw. L_T vom Idealfall L_S, $L_T = 0$ abweichen darf, wird durch $s_L = \sqrt{\frac{30\ s^2}{n}}$ bestimmt.

Die Linearität wird als gesichert angesehen, solange $\frac{L_S}{s_L}$ nicht größer als 2 ist.

Nach der Feststellung der Linearität der beiden Wirkungsgeraden mit gemeinsamem Nullpunkt erfolgt die Bestimmung des Wirkungsgrades, d.h. die Bestimmung von $tg\alpha$, bzw. $tg\beta$ nach der Formel:

$$B_S = M_{S_1} - M_0 + \frac{(6L_T - L_S)}{35} \; ;$$

$$B_T = M_{T_1} - M_0 + \frac{(6\ L_S - L_T)}{35} \; ;$$

B_S = Tangens der Wirkungsgeraden des Standards

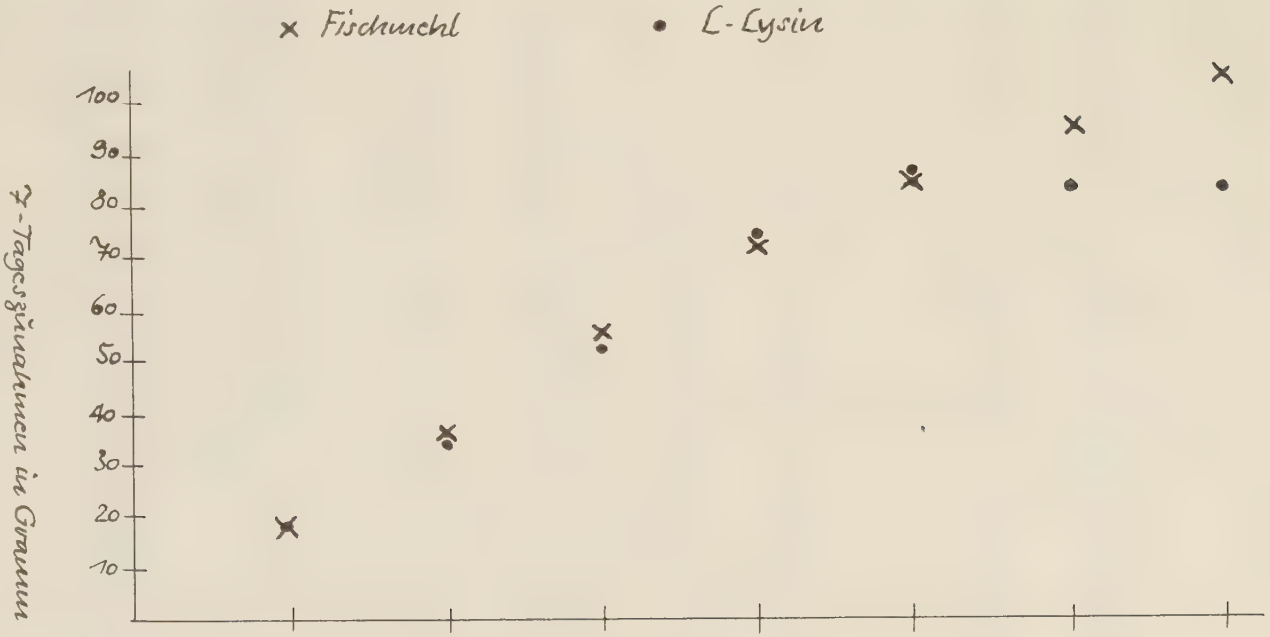
B_T = Tangens der Testproteinwirkungsgeraden

Aus den letzten beiden Werten ergibt sich nun die gesuchte relative Potenz "P" des Testmaterials zum Standard wie folgt:

$$P = \frac{B_T}{B_S} \; ;$$

Werden die Konzentrationen an Testprotein so gewählt, daß sie den entsprechenden L-Lysin-Konzentrationen der Standardrationen genau lysinäquivalent (analytisch ermitteltes Gesamtlysin) sind, so gibt P x 100 bereits die Verfügbarkeit des Lysins in % an.
In den folgenden Versuchen hingegen wurde P in "% verfügbares Lysin" in der ursprünglichen Substanz umgerechnet.

Abb. 3 Gewichtszunahmen bei Zusatz gradüierter Lysin- u. Fischmehlmengen



	S_0	T½ S½	T1 S1		T2 S2		
Lysinzulage in % d.R.		0,15	0.30	0.45	0.60	0.75	0,90
Gesamtlysin		0,62	0.82	0.97	1.12	1.27	1.42
Fischmehlzusatz i. % d.R.		2,5	5.0	7.5	10.0	12.5	15.0

Ergebnisse

Versuch 1:

Dieser Versuch diente der Bestimmung des Lysinbedarfs, bzw. der optimalen Lysinkonzentration in der Versuchsration. Zugleich sollte geprüft werden, ob die Wachstumswirkung direkt arithmetisch von der zugesetzten Lysindosis abhängig ist.

Die Bestimmung erfolgte durch graduierte Zulagen von L-Lysin-HCl [x], bzw. von Fischmehl, dessen Gehalt an verfügbarem Lysin absichtlich willkürlich mit 6 % (in der lufttrockenen Substanz) angenommen wurde.

Die Ergebnisse sind in Tabelle 4 dargestellt und der Abbildung 3 zu entnehmen.

Die Auswertung des 1. Versuches nach dem 5 Point Common Zero Test bestätigte das Postulat der linearen Abhängigkeit der Gewichtszunahmen von Lysinzulagen im Bereich von 0.0 - 0.6 % des Lysinzusatzes.

Mit keiner der Rationen mit höherer Lysinzulage wurden die mit 1.12 % Lysin erreichten Gewichtszunahmen überschritten. Damit ergibt sich bei einem Lysingehalt der Basaldiät von 0.52 % ein Lysinbedarf von etwa 0.52 % + 0.60 % = 1.12 %, d.h. bei 25.7 % Gesamtprotein der Ration ein Bedarf an Lysin von 4.36 % des Proteins.

Gleichfalls linear verhielten sich, dem Lysingehalt entsprechend, die Gewichtszunahmen bei steigendem Fischmehlzusatz bis zu einer Höhe der Zulage von 10.0 % der Ration.

Weitere Fischmehlzusätze über 10.0 % der Ration hinaus ergaben weitere Zunahmen, die jedoch nicht mehr proportional der zugesetzten Menge waren. (Siehe Tab. 4 und Abb. 3)

Das weitere Ansteigen der bei Fischmehlzusatz erhaltenen Wachstumskurve dürfte entweder auf unbekannte wachstumsfördernde Faktoren im Fischmehl zurückzuführen sein, oder noch wahrscheinlicher auf das Wirksamwerden limitierender Aminosäuren, Mineralstoffe etc. bei Überschreitung der Lysinkonzentration von 1.12 % in der Basaldiät beruhen.

Die für die Auswertung mit Hilfe des "5 Point Common Zero Tests" in Frage kommenden Varianten S_0, $S_{1/2}$, S_1, $T_{1/2}$, T_1 und S_0, S_1, S_2, T_1, T_2 ergaben in beiden Fällen eine Abhängigkeit des Testmaterials vom Standard von P = 0.97 %.

---

x) L-Lysin-HCl enthält 80 % L-Lysin, alle Zusätze wurden in L-Lysin äquivalenten Mengen angegeben.

Damit ergibt sich in der Fischmehlprobe eine verfügbare Menge an Lysin von 5.82 % der lufttrockenen Substanz.

Tabelle 4

Wirkung graduierter L-Lysinzusätze und graduierter Fischmehlzusätze auf die Gewichtszunahmen

L-Lysin in % insgesamt	der Diät durch Zusatz	Zunahme in g Tier in 7-Tagen	Fischmehlzusatz in % d. Basaldiät	Zunahme/Tier in 7-Tagen
0.52	--	19.8	--	19.8
0.67	0.15	30.3	2.5	33.8
0.82	0.30	51.5	5.0	54.7
0.97	0.45	71.3	7.5	70.3
1.12	0.60	85.8	10.0	84.6
1.27	0.75	81.4	12.5	93.7
1.42	0.90	80.3	15.0	103.9

Versuch 2:

In diesem Versuch sollte geprüft werden, ob in dem Bereich von 0.52 - 0.82 % Lysin (0.15 - 0.30 % L-Lysinzusatz) eine Beeinflussung der Lysinwirkung durch andere Aminosäuren stattfindet und somit die Spezifität der Methode in Frage stellt.

Wie in Versuch 1 erfolgten wiederum graduierte Zulagen von L-Lysin-HCl und Fischmehl. Dazu erfolgten Zugaben von Zein bzw. Glutaminsäure.

Abweichend von Versuch 1 wurden pro Ration 2 Gruppen a 5 Tiere verwendet.

Die Fischmehldosis betrug in diesem Versuch nur die Hälfte der in Versuch 1 zugesetzten Menge.

Die Ergebnisse sind aus Tabelle 5 ersichtlich.

Es zeigt sich, daß eine Zugabe von "Nicht-Lysin-N" die Lysinwirkung nicht beeinflußt.

Tabelle 5

Einfluß von Zusätzen von Glutaminsäure und lysinfreiem Protein auf die "Lysinwirkung"

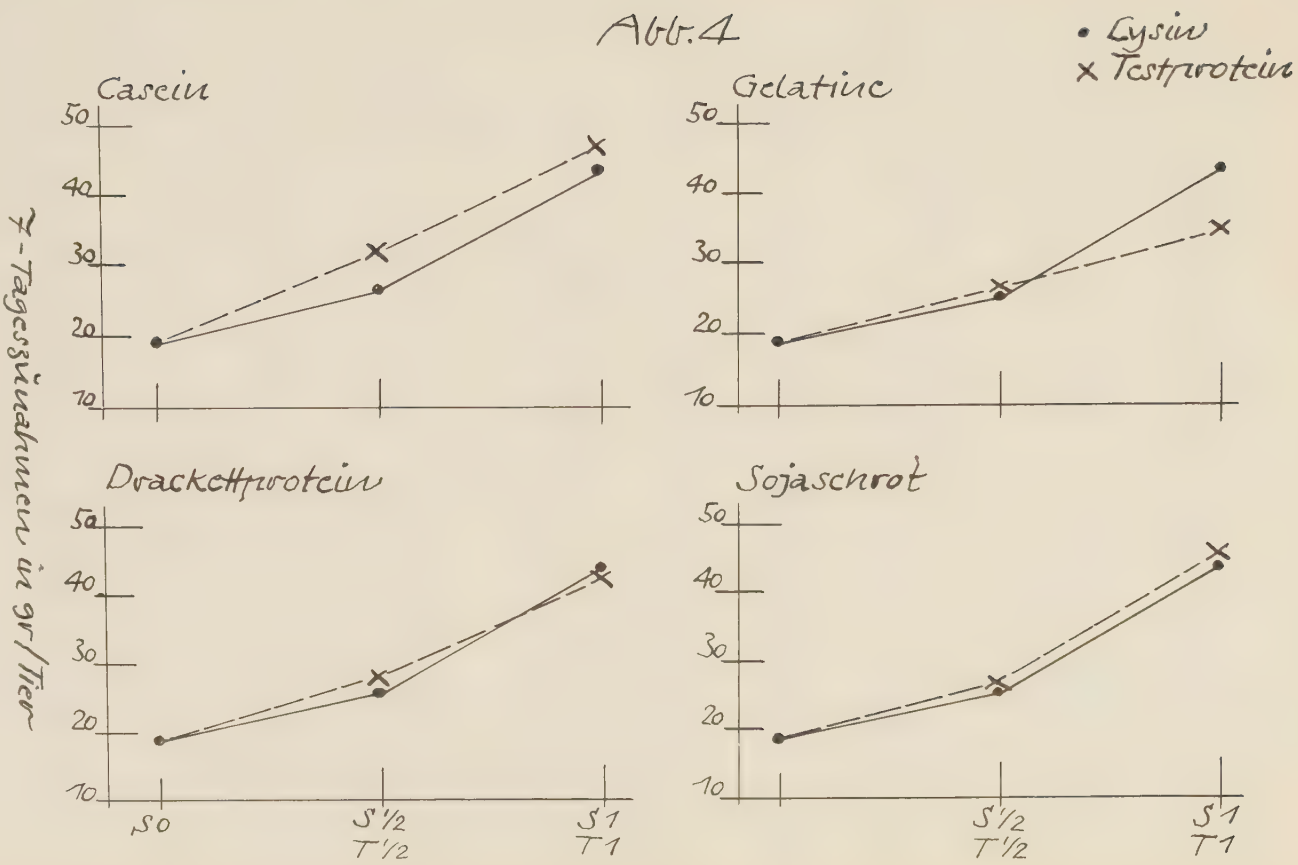
(7 Tagezunahmen in g)

L-Lysin = bzw. äquivalenter Testproteinzusatz zur Basaldiät	-	0.075	0.15	0.30
--	24.6			
0.15 % L-Lysin			34.2 +	
0.15 % L-Lysin + Glutaminsäure [3]			41.6	
1.25 % Fischmehl		34.8		
1.25 % Fischmehl + Zein [1]		33.8		
1.25 % Fischmehl + Glutaminsäure [3]		33,7		
2.50 % Fischmehl			42.3	
2.50 % Fischmehl + Zein [2]			40.6	
2.50 % Fischmehl + Glutaminsäure [4]			40.1	
0.30 % L-Lysin				54.1
0.30 % L-Lysin + Glutaminsäure [4]				54.7

+ Wert wegen sehr hoher Streuung der Einzelwerte fraglich

[1] + 1.25 % Zein, [2] + 2.5 % Zein, [3] + 1.25 % Glutaminsäure, [4] + 2.5 % Glutaminsäure

Abb. 4


• Lysin
× Testprotein
Casein
Gelatine
Drackettprotein
Sojaschrot
7-Tageszunahmen in gr/Tier
50
40
30
20
10
S 0
S 1/2
T 1/2
S 1
T 1

Versuch 3:

In einem dritten Versuch sollte das Verfahren an gereinigten Eiweißsubstanzen, deren Lysingehalt annähernd bekannt war, erprobt werden.

Als Testproteine wurden in diesem Versuch Casein, Gelatine und Drackettprotein verwendet. Als eine weitere Testsubstanz wurde Sojaschrot (dessen Gehalt an verfügbarem Lysin willkürlich mit 3 % der Substanz angenommen wurde) verwendet.

Jede der Testsubstanzen wurde in annähernd L-Lysin äquivalenter Mengen (entsprechend 0.15 und 0.30 % L-Lysin) der Basalration zugesetzt.

Die angenommenen Lysingehalte betrugen für Casein 7.9 %, Gelatine 5.2 %, Drackettprotein 6.8 % und Sojaschrot 3.0 %.

Jede Ration wurde - ebenso wie in Versuch 1 - an 2 x 6 Küken geprüft. Die Ergebnisse sind aus Tabelle 6 und Abbildung 4 zu ersehen.

Tabelle 6

L-Lysinzusatz (bzw. "äquivalenter" Testproteinzusatz)	--	0.15	0.30
	7-Tageszunahme in g/Tier		
L-Lysin	19.9	26.6	43.5
Casein	--	31.0	47.6
Gelatine	--	26.7	34.0
Drackettprotein	--	27.2	41.6
Sojaschrot	--	26.8	46.3

Der 5-Point Common Zero Test ergab trotz der scheinbaren Abweichung der Lysinstandardkurve eine Linearität der Punkte S_0, $S_{1/2}$, S_1.

Die verfügbare Menge an Lysin in den Testsubstanzen in % zeigt Tabelle 7.

Tabelle 7

	Lysin gesamt[x)]	verfügbares Lysin in % der Substanz
Casein	7.9	8.45
Gelatine	5.2	2.70
Drackettprotein	6.8	6.63
Sojaschrot	3.0	3.09

x) säulenchromatographisch bestimmt

V. BESPRECHUNG DER ERGEBNISSE

In Versuch 1 konnte gezeigt werden, daß in dem für die Prüfung von Lysinzusätzen wichtigen Bereich eine absolute Linearität des Gewichtszuwachses in Abhängigkeit von der zugesetzten Menge an kristallinem L-Lysin besteht.

Wurde statt des Lysins ein lysinreiches Eiweißfuttermittel (Fischmehl) verwendet, so bestand diese Linearität ebenfalls.

Weiterhin wurde die optimale Lysinkonzentration in der Basaldiät mit etwa 1.12 % ermittelt.

Im Bereich oberhalb dieser optimalen Lysinkonzentration scheint die Diät jedoch ein Defizit an weiteren essentiellen Nahrungsfaktoren aufzuweisen, da Fischmehlzusätze in diesem Bereich zu weiteren Wachstumssteigerungen führten.

Somit erschien die Basaldiät geeignet, um bei Lysinzusätzen in der Größenordnung bis zu 0.60 % Lysin als Testdiät zu dienen.

Der identische Verlauf der Kurven für Fischmehl und kristallines L-Lysin-HCl läßt ferner vermuten, daß in diesem Bereich die Reaktion der Tiere spezifisch für Lysin ist und nicht durch andere Substanzen (Mineralstoffe ect.) beeinflußt wird.

In Versuch 2 konnte gezeigt werden, daß "Nicht-Lysin-N" in Form eines Proteins (Zein) oder von Glutaminsäure die Lysinwirkung ebenfalls nicht beeinflussen. In diesem Bereich scheint somit weder ein Mangel an

einzelnen anderen Aminosäuren vorzuliegen, noch die Gefahr einer Aminosäurenimbalanz durch eine Testproteinzulage gegeben.

Nicht auszuschließen sind die vielfältigen Möglichkeiten einer Wachstumsbeeinflussung durch toxische Faktoren. Jedoch ist anzunehmen, daß bei den geringen Mengen an Testprotein diese Möglichkeit keine praktische Rolle spielt. Hinzu kommt, daß durch toxische Faktoren wahrscheinlich die lineare Beziehung zwischen Zulage und Wachstum gestört würde.

Anschließend wurde das Verfahren auf einige Proteinpräparationen angewendet. Während bei Casein, isoliertem Sojaprotein und Sojaschrot die ermittelte verfügbare Lysinmenge mit dem chromatographisch ermittelten Gesamtlysingehalt gut übereinstimmt, liegt die Lysinverfügbarkeit bei Gelatine wesentlich unterhalb des analysierten Lysingesamtgehalts. Eine große Rolle spielt hierbei sicher die bei der technischen Verarbeitung auftretende Erhitzung und die damit verbundene Festlegung von Lysin (Almquist und Maurer 1953, Kuiken 1952, Kratzer 1954, Riesen, Clandinin u.a. 1947, Milligan und Bird 1951 etc.). Das vorliegende Verfahren erscheint somit für die Ermittlung des verfügbaren Lysins aus Eiweißfuttermitteln und konzentrierten Proteinpräparationen geeignet.

Zur Erhöhung der Präzision ist eine Erhöhung der Tierzahl, eine höhere Anzahl von Gruppenwiederholungen, sowie eine Verlängerung der Versuchsdauer von 7 auf 10 Tage wünschenswert. Hinzu kommt die Notwendigkeit der Erprobung des Verfahrens bei anderen Tierarten (Ratte etc.)

Wünschenswert wäre schließlich noch ein Vergleich mit einem chemischen Verfahren der Verfügbarkeitsbestimmung von Lysin, z.B. dem Verfahren von Carpenter und Ellinger (1955).

VI. ZUSAMMENFASSUNG

Nach Besprechung des Problems der Proteinbewertung bei Eiweißfuttermitteln, der Bestimmung des Aminosäurebedarfs bei monogastrischen Tieren und der Bestimmung von Aminosäuren in Futtermitteln wurde die besondere Bedeutung von Lysin in der Eiweißernährung aufgezeigt, welche die Entwicklung spezifischer Verfahren zur Bestimmung seiner "Verfügbarkeit" wünschenswert macht.

Im ersten Versuch erfolgte eine Bestimmung des verfügbaren Lysins in Fischmehl an Hand graduierter Zusätze von L-Lysin-HCl bzw. Fischmehl zu einer lysinarmen halbsynthetischen Basaldiät. Die hierbei erhaltenen Gewichtszunahmen waren direkt arithmetisch abhängig von der im Futter enthaltenen Gesamtlysinmenge.

In einem zweiten Versuch konnte gezeigt werden, daß "Nicht-Lysin-N" in Form von Protein oder Glutaminsäure die Lysinwirkung nicht beeinflußt.

In einer weiteren Prüfung wurde das Verfahren auf einige Proteinpräparationen angewandt, wobei befriedigende Ergebnisse erhalten wurden.

Somit erscheint es möglich, mit einfachen und kurzzeitigen Kükenversuchen eine spezifische und präzise quantitative Bestimmung des Gehalts von Eiweißfuttermitteln an "verfügbarem" Lysin durchzuführen.

VII. LITERATURVERZEICHNIS

1. Almquist, H. J. — Proteins and Aminoacids in Animal Nutrition. U. S. Industrial Chemicals Co. 4 th Edition, 1957

2. Almquist, H. J., S. Maurer — Poultry Sci. 32, 549 (1953)

3. Almquist, H. J. — J. Nutr. 34, 543 (1947)

4. Anderson, J. O., D. C. Dobson — Poultry Sci. 37, 356 (1958)

5. Anderson, J. O., G. F. Combs, A. C. Groschke, G. M. Briggs — J. Nutr. 45, 345 (1951)

6. Baldini, J. T., H. R. Rosenberg — Poultry Sci. 34, 1301 (1955)

7. Bird, F. H. — Poultry Sci. 29, 737 (1950)

8. Borchers, R., C. W. Ackerson, F. E. Mussehl — Poultry Sci. 27, 601 (1948)

9. Bothwell, J. W., J. R. Brigmore, J. N. Williams — J. Nutr. 54, 469 (1954)

10. Bothwell, J. W., J. N. Williams — J. Nutr. 47, 375 (1952)

11. Bressani, R., E. T. Mertz — J. Nutr. 65, 481 (1958)

12. Brüggemann, J., K. Drepper — Hoppe-Seylers Zeitschrift f. physiol. Chemie 289, 211 (1952)

13. Brüggemann, J., H. Zucker — Arch. f. Geflügelknd. 24, 89

13_1. Brüggemann, J., H. Zucker, R. Weber — vet. med. Nachr. 1, 3 (1960)

14. Cannon, P. R., E. M. Humphreys, R. W. Wissler, L. E. Frazier — J. Clin. Invest. 23, 601 (1944)

15. Geigy A. G., Basel — Wissenschftl. Tab., Ausgabe 1953, S. 18

16. Cordson, R., A. Gordon, A. Martin — Biochem. J. 46, 341 (1944)

17. Edwards, H. M. jr., Norris, L. C., G. F. Heuser — Poultry Sci. 35, 385 (1956)

18. Edwards, H. M. jr., R. J. Young, M. B. Gilles — J. Nutr. 64, (1958)

19. Eldred, N. R., G. Rodney — J. Biol. Chem. 162, 261 (1946)

20. Evans, R. J., H. A. Butts — J. Biol. Chem. 175, 15 (1948) zit. nach Horn, M. J., J. Nutr. 48, 231 (1953)

21. Evans, R. J., H. A. Butts — Science 109, 569 (1949)

22. Fisher, H. D. Johnson — Poultry Sci. 36. 444 (1947)

23. Fisher, H. — J. Nutr. 59, 491 (1956)

24. Fisher, H., D. Johnson, G. A. Leveille — J. Nutr. 62, 349 (1957)

25. Fisher, H., P. Grimminger, G. A. Leveille — J. Nutr. 69, 117 (1960)

26. Geiger, E. — J. Nutr. 36, 813 (1948)

27. Grau, C.R. J. Nutr. 36, 99 (1948)

28. Grau, C.R., M.Kamei J. Nutr. 41, 89 (1950)

29. Grimminger, P., H. M. Scott, R. M. Forbes J. Nutr. 59, 67 (1956)

30. Grimminger, P., H. M. Scott, R. M. Forbes J. Nutr. 62, 79 (1957)

31. Grimminger, P., H. M. Scott J. Nutr. 68, 429 (1959)

32. Gupta, J. D., A. M. Dakroury, A. E. Harper, C. A. Elvehjem J. Nutr. 64, 259 (1958)

33. Haggar, R., T. D. Kinney, N. Kaufmann J. Nutr. 57, 305 (1955)

34. Ham, W. E., R. M. Sandstet, F. E. Mussehl J. Biol. Chem. 161, 635 (1945)

35. Harper, A. E. J. Nutr. 68, 405 (1959)

36. Harris, H. A., A. Neuberger, F. Sanger Biochem. J. 37, 508 (1943) zit. nach J. K. Jahnke 1957

37. Hegsted, D. M. J. Nutr. 35, 399 (1948)

38. Jahnke, J. K., C. Schuck J. Nutr. 61, 307 (1957)

39. Klain, G. J., D. C. Hill, H. D. Brannion J. Nutr. 61, 317 (1957)

40. Klain, G. J., D. C. Hill, H. D. Brannion Poultry Sci. 35, 1151 (1956)

41. Klain, G. J., H. M. Scott, B. C. Johnson Poultry Sci. 37, 976 (1958)

42.	Klain, G.J., D.C. Hill, J.A. Gray, E.M. Olsen	Poultry Sci. 39, 25 (1960)
43.	Kratzer, F.H.	J.Nutr. 41, 153 (1950)
44.	Kratzer, F.H., P.N.Davis, B.Marshall	Poultry Sci. 35, 197 (1956)
45.	Kratzer, F.H., P.Vohra	Fed. Proc. 15, 559 zit. nach Klain, G.J. u.Mitarb.(1956)
46.	Kratzer, F.H., P.N.Davis, D.E.Williams, B.J.Marshall	J.Nutr. 53, 407 (1954)
47.	Krautmann, B.A., S.M.Hauge, E.T.Mertz, C.W.Carrick	Poultry Sci. 37, 535 (1957)
48.	Kuiken, K.A.	J.Nutr. 46, 13 (1952)
49.	Lea, C.A., L.J.Parr, K.J. Carpenter	Brit. J. Nutr. 14, 91 (1960)
50.	Liener, I.E., M.J.Pallansch	J.Biol.Chem. 197, 29 (1952)
51.	Liner, I.E., H.L.Fevold	Arch. Biochem. 21, 395 (1949)
52.	Liener, I.E.	J.Nutr. 49, 527 (1953)
53.	Lyman, C.M., K.A.Kuiken, A.F.Hale	J.agr.Food Chem. 4, 100 (1956)
54.	March, B.J.Biely, J.Tonzetich	J.Nutr. 42, 565 (1950)
55.	Martin, A., R. Synge	Biochem. J. 37, 79 (1943)
56.	Mauron, J., F. Mottu, E.Bujard, R.H.Egli	Arch. Biochem. Biophys. 59, 433 (1955)

57. Milligan, J.L., H.R.Bird — Poultry Sci. 30, 651 (1951)

58. Mitchell, H.H. — J.Biol.Chem. 58, 873 (1924)

59. Mitchell, H.H., R.J.Block — J.Biol.Chem. 163, 509 (1946)

60. Moore, S., W.H.Stein — J.Biol.Chem. 192, 663 (1951)

61. Morrison, A.B., D.R.Clandinin, A.R.Robblee — Poultry Sci. 32, 492 (1953)

62. Neuberger, A., T.A.Webster — J.Biochem. 39, 200 (1945)

63. Osborne, T.B., L.B. Mendel — J.Biol.Chem. 17, 325 (1914) zit. nach R.S.Harris, J.Nutr. 67, 549

64. Oser, B. — J. of Americ.Diet Assoc. 27, 396 (1951)

65. L.E. Ousterhout, C.R.Grau, B.D.Lundholm — J.Nutr. 69, 65 (1959)

66. Owings, W.J., S.L.Balloun — Poultry Sci. 38, 1285 (1959)

67. Patrick, H. — Poultry Sci. 32, 942 (1953)

68. Pecora, L.J., J.M.Hundley — J.Nutr. 44, 101 (1951)

69. Riesen, W.H., D.R.Clandinin, C.A.Elvehjem, W.W.Cravens — J.Biol.Chem. 167, 143 (1947) zit. nach Eppinger, K., Inauguraldissertation 1960

70. Rose, W.C. — Science 86, 298 (1937)

71. Rose, W.C. — Physiol.Reviews 18, 109 (1938) zit. nach J.H.Watts, J.Nutr. 67 483

72. Rosenberg, H.R. — Arch. Biochem. Biophys. 37, 461 (1952) zit. nach Westermann, B., J.Nutr. 61, 137

73. Rosenberg, H.R., J. T. Baldini	Poultry Sci. 36, 1381 (1957)
74. Schwartz, H.G., M.W. Taylor, H. Fisher	J. Nutr. 65, 25 (1958)
75. Tarr, H.L.A., J. Biely	Poultry Sci. 33, 242 (1954)
76. Thomas, K.	Arch. Anat. u. Physiol. 219 (1909)
77. Tsien, W.S., E.L. Johnson, I. E. Liener	Arch. Biochem. Biophys. 71, 414 (1957)
78. Vohra, P., F.H. Kratzer	J. Nutr. 63, 471 (1957)
79. Williams, H.H., L.V. Curtin, L.K. Loosli, L.A. Maynard	J. Biol. Chem. 208, 277 (1954)
80. Williams, M.A., C.R. Grau	J. Nutr. 59, 243 (1955)
81. Wood, E.G., D.J. Finney	J. Pharm. and Pharmacol 19, 112 (1946)

Nach Beendigung meiner Arbeit möchte ich Herrn Prof. Dr. Dr. Johannes Brüggemann für die Überlassung des Themas sowie für die ausgezeichneten Arbeitsbedingungen in seinem Institut meinen besten Dank aussprechen.

Zugleich möchte ich dem wissenschaftlichen Assistenten des Instituts, Herrn Dr. Hermann Zucker, für die mir jederzeit gewährte Unterstützung und Anregung herzlich danken.

LEBENSLAUF

Am 24. 2. 1937 wurde ich Roland, Kurt, Georg Weber als Sohn des Architekten Konrad Weber und seiner Ehefrau Ernestine Weber, geb. Hölzlwimmer, in München geboren.

Von 1943 bis 1947 besuchte ich die Volksschule in Neuburg a. D. (Kreis Schwaben), in Hausham bei Schliersee und nach Kriegsende in München.

1947 trat ich in das Ludwigsgymnasium in München über, wo ich 1956 die Reifeprüfung ablegte.

Vom Wintersemester 1956/57 bis einschließlich Wintersemester 1960/61 war ich an der Tierärztlichen Fakultät der Universität München immatrikuliert. Hier schloß ich im Juli 1961 mein Studium mit dem tierärztlichen Staatsexamen ab. Vom 15. Juli bis 15. Oktober 1961 war ich als Praktikant bei einem Lehrtierarzt in München tätig.